



Panel Filmarray GI[®] en la detección de patógenos entéricos en deposiciones: experiencia preliminar



20 min.



Las infecciones gastrointestinales continúan siendo un problema de salud pública en países en vías de desarrollo e industrializados. A pesar de los avances en las políticas públicas de sanidad, las regulaciones en la seguridad de los alimentos y las inmunizaciones, estas enfermedades siguen afectando a millones de personas cada año, siendo la población pediátrica la más vulnerable y el diagnóstico etiológico uno de los principales desafíos. En este sentido, uno de los mayores obstáculos en el diagnóstico de las infecciones gastrointestinales es el amplio número de patógenos virales, bacterianos y parasitarios asociados, que dificultan tanto el cultivo como la identificación de los agentes etiológicos involucrados. Asimismo, el diagnóstico rápido y preciso, ha demostrado un gran impacto en el manejo y en la vigilancia epidemiológica de estas infecciones.



Mauricio Farfán,
Paula Piemonte,
Yohana Labra,
Juan Henríquez,
Enzo Candia y
J. Pablo Torres

Rev Chilena Infectol 2016; 33 (1): 89-91
Clínica Las Condes. Laboratorio de Biología Molecular.

Declaración conflicto de interés: Los autores declaramos no tener conflictos de interés. Fuente de financiamiento: Ninguna.

Recibido: 17 de agosto de 2015 / Aceptado: 5 de enero de 2016

Correspondencia a: Mauricio Farfán
mauriciofarfan4@gmail.com



Resumen

Introducción: Las infecciones gastrointestinales continúan siendo un problema de salud pública, siendo el diagnóstico etiológico uno de los principales desafíos. Dentro de las técnicas de diagnóstico molecular recientemente desarrolladas, el panel Filmarray GI[®] permite la detección de 23 patógenos (14 bacterias, cinco virus y cuatro parásitos) en una hora. **Objetivo:** Describir la experiencia del panel Filmarray GI[®] en el laboratorio de Biología Molecular de Clínica Las Condes. **Método:** Se realizó un estudio observacional y transversal que incluyó los resultados obtenidos de 305 muestras de deposiciones en que se solicitó el examen de panel Filmarray GI[®]. **Resultados:** De los 305 exámenes solicitados, 99 (32,5%) resultaron negativos y 206 positivos (67,5%). De las muestras positivas, en 107 muestras (51,9%) se detectó un solo patógeno y en 99 muestras (48,1%) se detectó más de un patógeno. **Conclusiones:** Se describe la experiencia del uso del panel Filmarray GI[®] en deposiciones, donde destaca el elevado número de muestras positivas para un microorganismo y la co-detección de patógenos entéricos.

Introducción

Las infecciones gastrointestinales continúan siendo un problema de salud pública en países en vías de desarrollo e industrializados (1).

A pesar de los avances en las políticas públicas de sanidad, las regulaciones en la seguridad de los alimentos y las inmunizaciones, estas enfermedades siguen afectando a millones de personas cada año, siendo la población pediátrica la más vulnerable (2). Esta situación se ve agravada

con la aparición de brotes de diarrea que modifican dramáticamente el escenario epidemiológico (3). En este sentido, el diagnóstico rápido y preciso, ha demostrado un gran impacto en el manejo y en la vigilancia epidemiológica de estas infecciones. Uno de los mayores obstáculos en el diagnóstico de las infecciones gastrointestinales es el amplio número de patógenos virales, bacterianos y parasitarios asociados, que dificultan tanto el cultivo como la identificación de los agentes etiológicos involucrados. El cultivo microbiológico "clásico" se ha enfocado principalmente en el cultivo de patógenos como *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp.; y pruebas rápidas para la detección de rotavirus. Sin embargo, estos patógenos dan cuenta aproximadamente de 25% de los agentes etiológicos de diarrea (4-5).

En general, el diagnóstico mediante técnicas de biología molecular, ha tenido un fuerte impacto en la detección de patógenos. En el estudio de las infecciones gastrointestinales, estas técnicas han ampliado el número de patógenos detectados, sobre todo con el uso de técnicas de reacciones de la polimerasa en cadena (RPC) múltiple (6). Sin embargo, estas técnicas son costosas, requieren de personal entrenado y están limitadas a ciertos patógenos, careciendo además de validaciones y certificaciones que entreguen seguridad al equipo clínico para la indicación del tratamiento adecuado. Recientemente, la *Food and Drugs Administration* (FDA) ha liberado para su uso en clínica el panel Filmarray GI[®] (Biofire, Inc., Salt Lake City, UT) que permite, en una sola reacción, la detección de 23 patógenos entéricos: virales (adenovirus F40/41, astrovirus, norovirus GI/GII, rotavirus A, sapovirus I, II, IV and V), bacterianos (*Campylobacter* spp., *Clostridium difficile*, *Plesiomonas shigelloides*, *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio*



MONTEBIO

TEST RÁPIDOS

● INFECCIOSAS

MONTEBIO STREP A
MONTEBIO STREP B
MONTEBIO CLAMIDIA
MONTEBIO SALMONELLA
MONTEBIO SHIGELLA
MONTEBIO H. PYLORI Ag.
MONTEBIO ROTAVIRUS
MONTEBIO ADENOVIRUS
MONTEBIO ROTA/ADENO
MONTEBIO INFLUENZA A/B
MONTEBIO C. DIFFICILE A/B
MONTEBIO NOROVIRUS
MONTEBIO E. COLI O157
MONTEBIO LEGIONELLA
MONTEBIO CAMPYLOBACTER

● DROGAS Y ALCOHOL

MONTEBIO DROGAS EN SALIVA
MONTEBIO DROGAS EN ORINA
MONTEBIO DROGAS EN SANGRE
MONTEBIO ALCOHOL EN ORINA
MONTEBIO ALCOHOL EN ALIENTO

● TUMORALES

MONTEBIO SANGRE OCULTA
MONTEBIO Hb/Hp.
(HEMOGLOBINA/HAPTOGLOBINA)

● ALERGIA

MONTEBIO IGE TOTAL

● CARDÍACOS

MONTEBIO TROPONINA I
MONTEBIO DIMERO-D
MONTEBIO COMBO CARDÍACO
(TROPONINA I / CK-MB /
MIOGLOBINA)

● FERTILIDAD

MONTEBIO EMBARAZO

ADEMÁS IMPORTAMOS / DISTRIBUIMOS LAS SIGUIENTES MARCAS



ESPERMOGRAMA
COMPUTARIZADO

PARATEST
ECO



SIEMENS

MERCK

SIGMA-ALDRICH



MONTEBIO

Oficina y Depósito: Vera 575 (Capital Federal)
Tel/FAX:(54 11) 4858-0636 (Rotativas)
info@montebio.com.ar | www.montebio.com.ar

parahaemolyticus, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae*, *Shigella* spp., *Escherichia coli* (*E. coli*) enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteropatogénica (EPEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) y *E. coli* enteroinvasora (EIEC), y parasitarios (*Cryptosporidium*, *Cyclospora cayetanensis*, *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*). Esta técnica integra la extracción y purificación de ácidos nucleicos directamente de la muestra, la RPC y la detección de las regiones génicas amplificadas. El proceso completo entrega resultados en alrededor de una hora. Considerando el impacto que ha tenido esta técnica en otros países y que no existen estudios en nuestro país sobre el uso de este panel, el objetivo de nuestro estudio es describir la experiencia del panel Filmarray GI[®] en la detección de patógenos entéricos en deposiciones en el laboratorio de Biología Molecular de Clínica Las Condes.

Método

Previo a su aplicación como examen en nuestro centro, se realizó una verificación con muestras de deposición utilizando pruebas comparadoras disponibles en nuestro laboratorio como cultivo o RPC en tiempo real para patógenos específicos, obteniendo 100% de concordancia (datos no mostrados). Posteriormente, se realizó un estudio observacional y transversal que incluyeron los resultados obtenidos de 305 muestras de deposiciones en que se solicitó el examen de panel Filmarray GI[®] en pacientes de urgencia, ambulatorios e internados en Clínica Las Condes desde el 1 de enero al 30 de junio de 2015. Este estudio contó con la aprobación del Comité de Ética de Clínica Las Condes.

Resultados

En relación a las características demográficas de las muestras analizadas, el panel Filmarray GI[®] se solicitó en mayor proporción en los pacientes entre 1 y 5 años (82/305; 26,8%) y 22-64 (92/305; 30,1%). Con respecto al origen de las muestras, la mayoría provenían de pacientes internados (206/305; 67,5%). En 78/305 (25,6%) y 21/305 (6,9%) las muestras provinieron de pacientes ambulatorios y de urgencia, respectivamente. En relación a la positividad del panel, de los 305 exámenes solicitados, 99 (32,5%) resultaron negativos y 206 positivos (67,5%). De las 206 muestras positivas, en 107 (51,9%), 67 (32,5%), 21(10,2%), 6 (2,9%), 2 (1%) y 3 (1,5%) resultaron ser simultáneamente positivas para uno, dos, tres, cuatro, cinco y seis patógenos, respectivamente. La Tabla 1 detalla el total de patógenos detectados en las 206 muestras positivas, destacando una elevada detección de EPEC, norovirus GI/GII y *G. lamblia* para los patógenos bacterianos, virales y parasitarios, respectivamente. Con respecto a la co-infección, es interesante destacar que todos los microorganismos detectados se encontraron asociados a otros patógenos, en proporciones desde 46,2% (*Salmonella* spp.) a 100% (*P. shigelloides* y *V. cholerae*).

Discusión

La detección de múltiples patógenos por la técnica de Filmarray ha tenido un fuerte impacto en el diagnóstico de las diarreas, principalmente por la rapidez de la obtención de resultados y el número de patógenos incluidos en una sola determinación. Con respecto al tiempo de análisis, los resultados de esta técnica se

obtienen en una hora, a diferencia de las técnicas de RPC o cultivo tradicional para los patógenos incluidos en el panel, cuyos lapsos fluctúan entre 6-8 h y 24-72 h, respectivamente. En relación a los valores de sensibilidad y especificidad, un estudio multicéntrico reciente comparó el panel Filmarray GI[®] con técnicas de cultivo o RPC asociado a secuenciación en 1.556 muestras de deposiciones, donde el panel mostró una sensibilidad de 100% para 12 de los patógenos incluidos en el panel; para el resto de los patógenos los valores de sensibilidad fueron $\geq 94,5\%$ (7). Para *Vibrio* spp., *V. cholerae* y *E. histolytica* no fue posible obtener datos de sensibilidad debido a su baja prevalencia. En este mismo estudio, se encontró que la especificidad para cada uno de los patógenos incluidos en el panel era sobre 98,4%. Resultados similares se encontraron al comparar el panel Filmarray GI[®] con *Luminex xTag gastrointestinal pathogen panel*; ambas técnicas aprobadas por la FDA (8).



Tabla 1. Número de patógenos entéricos detectados por el panel Filmarray GI[®] por patógeno y grupo etario

Patógenos	Total	Número de muestras positivas por grupo etario (%) del total de patógenos detectados por grupo etario						
		0-5 años	6-17 años	18-29 años	30-49 años	50-64 años	≥ 65 años	
Bacterias								
<i>Campylobacter</i> spp.	35	0 (0,0%)	0 (0,0%)	4 (11,4%)	2 (5,7%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>E. coli</i>	42	0 (0,0%)	4 (9,5%)	11 (26,2%)	4 (9,5%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>P. shigelloides</i>	0	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Salmonella</i> spp.	11	0 (0,0%)	2 (18,2%)	4 (36,4%)	2 (18,2%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Yersinia</i> spp.	1	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Vibrio</i> spp.	1	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Yersinia</i> spp.	4	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Virales								
Rotavirus	44	0 (0,0%)	0 (0,0%)	11 (25,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Adenovirus	64	0 (0,0%)	0 (0,0%)	10 (15,6%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
ETEC	17	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Shigella	4	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Rotavirus	11	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Parasitos								
<i>Escherichia coli</i> spp.	4	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Cryptosporidium</i>	2	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>E. coli</i> spp.	0	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Giardia lamblia</i>	16	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Total								
<i>Salmonella</i> spp.	11	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Escherichia coli</i> spp.	42	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Yersinia</i> spp.	5	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Rotavirus</i>	44	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Adenovirus</i>	64	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>ETEC</i>	17	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
<i>Shigella</i>	4	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Total	206	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)

Una observación interesante sobre el uso del panel Filmarray GI[®] en nuestro centro es el alto número de muestras positivas para más de un patógeno (48,1%). Estudios recientes, encontraron que 32,9%, 54,2% y 31,5% de las muestras positivas por Filmarray presentaban más de un patógeno (7-10). Una explicación a estos hallazgos puede asociarse a la falta de experiencia clínica en exámenes que detectan un número importante de patógenos en una misma reacción. Será interesante evaluar en el futuro los mecanismos de co-infección y el impacto clínico de estas observaciones, de modo de diseñar algoritmos que faciliten la interpretación de estos resultados en la asignación del agente etiológico de la diarrea.

Otro hallazgo interesante de nuestra experiencia, es el elevado número de muestras positivas para los patotipos de *E. coli* diarreogénicas. Desde su descubrimiento, el diagnóstico de estos patógenos se basa en la detección de genes de patogenicidad específicos para cada serotipo mediante técnicas de biología molecular, una situación que impide determinar la prevalencia de estos patotipos y su uso como una técnica de rutina (10). Tal como se presenta en la tabla 1, de las 354 detecciones positivas en 137 (38,7%) se detectaron *E. coli* diarreogénicas, en su mayoría asociado a co-

infecciones ($\geq 70\%$), con alto número de detecciones positivas para los patotipos EPEC y EAEC, consistentes con reportes previos (7-9). Será interesante implementar en el futuro estudios epidemiológicos destinados a establecer la prevalencia de estos patógenos de modo de diseñar estrategias que permitan su manejo y control.

Con respecto al costo de cada determinación, varios estudios concuerdan en que si bien estas técnicas presentan un valor elevado, su costo es bastante menor que el análisis por separado de cada uno de los patógenos incluidos en el panel. Además, esta técnica requiere de un tiempo de operador de alrededor de cinco minutos y no requiere análisis posteriores, obteniendo los resultados en una hora (7).

Este estudio presenta varias limitaciones, siendo la más importante la falta de una técnica de estándar de oro u otra técnica comparadora que permita confirmar la presencia de los microorganismos detectados, sobre todo en aquellas muestras

en que se detectó la presencia de más de un patógeno. Sin embargo, la verificación previa realizada sobre 20 muestras de deposiciones mostró 100% de concordancia con técnicas comparadoras como cultivo o RPC en tiempo real. Por otra parte, no fue posible evaluar la presencia de *Y. enterocolitica* y *E. histolytica* en las muestras analizadas, debido a la baja prevalencia de estas infecciones en nuestro país. Otra limitante se refiere a la población estudiada, la cual tiene características socio-económicas que no permite extrapolar los resultados a la población general. Es importante destacar que, siendo un estudio realizado desde el laboratorio, en ningún caso se objetivó la ocurrencia de diarrea ni las características clínicas de los pacientes en que se solicitó el examen, lo que será interesante evaluar en el futuro.

En resumen, este trabajo muestra la experiencia del uso del panel Filmarray GI[®] como herramienta diagnóstica en la detección de patógenos entéricos, donde destaca el elevado número de muestras positivas para un microorganismo y la co-

detección de patógenos. El uso de este tipo de técnicas, permitirá incrementar el diagnóstico etiológico de las diarreas, y eventualmente, el control de estas infecciones.



Referencias bibliográficas

- 1.- O'Ryan M, Prado V, Pickering L K. A millennium update on pediatric diarrheal illness in the developing world. *Semin Pediatr Infect Dis* 2005; 16:125-36.
- 2.- World Health Organization. World health statistics 2014. WHO press, Geneva, Switzerland. http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2014/en (Accedido: 22 de marzo de 2014).
- 3.- Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W, Köck R, Fruth A, Bauwens A, et al. Characterisation of the *Escherichia coli* strain associated with an outbreak of haemolytic uremic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *Lancet Infect Dis* 2011; 11: 671-6.
- 4.- Zhang H, Morrison S, Tang Y W. Multiplex polymerase chain reaction tests for detection of pathogens associated with gastroenteritis. *Clin Lab Med*. 2015; 35:461-86.
- 5.- Lawler J V, Wallace M R. Diagnosis and treatment of bacterial diarrhea. *Curr Gastroenterol Rep*. 2003; 5: 287-94.
- 6.- Rand K H, Tremblay E E, Hoidal M, Fisher L B, Grau K R, Karst S M. Multiplex gastrointestinal pathogen panels: implications for infection control. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015; 82:154-7.
- 7.- Buss S N, Leber A, Chapin K, Fey P D, Bankowski M J, Jones M K, et al. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. *J Clin Microbiol* 2015; 53: 915-25.
- 8.- Khare R, Espy M J, Cebelinski E, Boxrud D, Sloan L M, Cunningham S A, et al. Comparative evaluation of two commercial multiplex panels for detection of gastrointestinal pathogens by use of clinical stool specimens. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 3667-73.
- 9.- Spina A, Kerr K G, Cormican M, Barbut F, Eigentler A, Zerva L, et al. Spectrum of enteropathogens detected by the Filmarray GI[®] Panel in a multicentre study of community-acquired gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21: 719-28.
- 10.- Croxen MA, Law R J, Scholz R, Keeney K M, Wlodarska M, Finlay B B. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 2013; 26: 822-80.

Calbiotech 25(OH) Vitamina D ELISA



Enzoinmunoensayo **sensible, robusto, adaptable** a sistemas automatizados y manuales

No requiere preparación externa de la muestra ni utiliza solventes orgánicos.

Ventajas del Ensayo

- Amplio Rango Dinámico: 0.25ng/mL a 150ng/mL
- Linealidad: 90% - 111%
- Reactividad cruzada del 100% respecto a D2 y D3



LABORATORIOS BACON S.A.I.C

Tel. +54(11) 4709-0171 / fax +54(11) 4709-2636

www.bacon.com.ar | ventas@bacon.com.ar